

토끼의 甲狀腺 分泌率 測定

李 鍾 珍 · 尹 世 重

(서울대학교 文理科大學 生物化學教室)

“Determination of Thyroid Secretion Rate in Rabbit”

LEE, Chong Jin and YOON, Se Joong

(Department of chemistry, College of Liberal Arts and Sciences, Seoul National University)

(1960年 6月 21日 接受)

SUMMARY

A method for determination of thyroid secretion rate in rabbit by means of radioactive iodine was presented.

After injection of radioactive iodine, *in vivo* determinations of radioactivity in thyroid gland were made during a 19 day-experimental period. In the same period blood samples were drawn and analyzed for protein-bound iodine (PBI) and for protein-bound radioactive iodine (PBI¹³¹).

A rate constant for secretion of thyroid hormone was calculated from the disappearance rate of radioactive iodine in thyroid gland. The secretion rate of radioactive hormone iodine was calculated by multiplying this rate constant by the amount of radioactive iodine present in thyroid gland. Assuming that the specific radioactivities of the circulating thyroid hormone and of the hormone just secreted were identical, thyroid secretion rate was calculated by the equation.

$$\frac{\text{Secreted hormone-iodine, } \gamma/\text{hr.}}{\text{Secreted hormone-I}^{131}, \% \text{ dose/hr.}} = \frac{\text{PBI, } \gamma/\text{ml. Serum}}{\text{PBI}^{131}, \% \text{ dose/ml. Serum}}$$

The method presented consisted of measurements of a series of independent criteria on thyroid function, and the resulting thyroid secretion rate was calculated by combination of those.

緒 論

甲狀腺은 特殊한 分泌液을 合成하고 이것을 저장 또 排出한다.

現在까지의 研究로는 이 特殊한 分泌物은 싸이록신 (Thyroxine) 또는 테트라요오드싸이로닌 (Tetraiodothyronine)이라는 것이 밝혀졌고 이 밖에 트리요오드싸이로닌 (Triiodothyronine)도 싸이록신과 같이 排出될 可能性도 있게 되었다. 몸속에는 沃素의 大部分이 甲狀腺에 있다. 또한 싸이록신은 典型的의 蛋白質과 같은 行動을 하는 싸이로구로부린이라는 物質과 綜合된 形態로 甲狀腺으로부터 放出된다. 沃素는 싸이록신의 主成分이며 싸이록신은 身體의 거의 모든 細胞 속에서 作用한다. 即 싸이록신은 觸媒劑로써 細胞의 勵起를

變化시키는데 有用한 potential energy의 量子的 形成을 促進시키는 作用을 한다.

甲狀腺의 分泌率과 動物의 生理作用(乳生成 및 成長等)은 密接한 關係가 있기 때문에 本研究에서는 于先 토끼를 희생시키지 않고 甲狀腺分泌率을 決定하는 새로운 方法을 모색하는데 目的이 있다.

나아가서는 이 研究를 사람과 여러 家畜의 甲狀腺分泌率의 決定에 應用케 하여 潜在性 甲狀腺機能亢進症 등의 甲狀腺機能異常에서 오는 여러 病을 治療하는 길을 열어주고 또 家畜의 乳生成과 成長을 촉구 시킬 수 있는 새로운 技術을 모색하는데 있다.

實驗 方法

(I) Rate Constants 定하는法

甲狀腺分泌率을 決定하는데 放射性同位元素 I^{131} 을 使用하였다. 沃素는 甲狀腺에 모이는 機能이 있기 때문에 放射性沃素에 依해서 研究가 可能한 것이다. 初期에 있어서는 甲狀腺分泌率을 測定하기 爲하여 Dempsey(1943)는 動物을 犧牲시켜 甲狀腺의 무게를 잴다. 그러나 그 後 Hertz, Roberts와 Evans(1938) 등은 처음으로 放射性同位元素를 써서 研究를 하였다. 最近에 와서 動物을 犧牲시키지 않고 甲狀腺放射能을 外部測定하는 것이 可能하게 됨에 따라 이 方面의 研究가 活潑하게 되었다. 甲狀腺機能과 沃素가 體內的 局部에서 移動하는 速度에 對한 數學的 分析이 Oddie(1949)에 依하여 提出됨에 따라 生理學的 變數의 計算도 可能하게 되었다. Brownell(1951)은 사람의 甲狀腺機能에 따른 여러 過程의 速度常數를 Oddie의 方法으로 計算하였고 Blincoe와 Brody(1955)는 소의 甲狀腺機能을 研

究하였다.

a) 이 實驗方法은 Fig. 1과 같은 沃素代謝過程表에 基礎를 두었다. 沃素를 靜脈에 注射하면 곧 血漿 속으로 擴散되고 이것은 다시 血液全體로 擴散된다. 이때 速度常數는 K_3 이다. 血漿으로부터 若干의 沃素가 速度常數 K_1 으로 甲狀腺에 蓄積되고 나머지는 주로 腎臟을 通하여 速度常數 K_2 로 排泄된다. 이 세 가지 速度常數로 沃素는 單位時間에 血漿으로부터 各部分에 移動한 셈이다. 甲狀腺에 일단 모인 沃素는 “Thyroxine”이나 “Triiodothyronine”으로 되어 速度常數 K_4 로 血漿 속으로 分泌되는데 이것은 甲狀腺沃素가 hormone으로 되어 單位時間에 分泌된 部分을 意味하다. 血漿속에서 甲狀腺 hormone은 血清蛋白質과 結合해서 所謂 PBI(protein-bound iodine)로 되어 代謝過程에 參與하게 된다. 甲狀腺호르몬은 肝臟에 들어가서 分解된

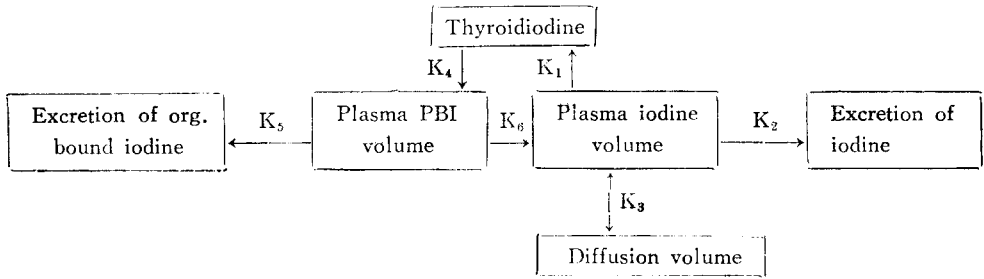


Fig. 1. Model of iodine metabolism.

다. 이 때 沃素의 一部는 沃化物로써 遊離되어 速度常數 K_3 로 다시 血漿 속으로 들어가서 前과 같은 過程을 밟지만 나머지 沃素는 다른 有機化合物과 結合해서 速度常數 K_5 로 腸을 通하여 排泄된다.

b) 正確한 速度常數를 實驗으로 測定하는 것은 매우 困難한 問題였다. 多幸히도 分析의 見地에서 볼 때 Fig. 2에서 보는 바와 같이 甲狀腺機能에서 일어나는 過程은 時間差가 현저하게 다른 두 部分으로 가를 수가 있었다. 即 放射性沃素를 注射하면 그것은 甲狀腺에 蓄積되는데 約 15時間 걸리는 反面에 蓄積된 沃素가 거의 hormone으로 되어 分泌되는 데는 約 10일이 걸렸다. 그러므로 初期의 6時間동안 甲狀腺에 蓄積 되는 速度常數를 測定할때까지 hormone의 分泌는 아주 無視할 程度 이어서 影響을 미치지 않았지만 反對로 hormone分泌의 速度常數를 測定 할 때는 遊離된 沃素의 蓄積은 크게 影響을 미쳤다. 이와 같은 相互關係는 다음과 같이 數學的 分析法으로 수정이 可能하였다. 沃素가 甲狀腺에 모이는 速度常數와 腎臟을 通하여 排

泄되는 速度常數의 合(K_1+K_2)은 Brownell(1951)가 研究한 세 가지 方法으로 計算할 수 있었다. 同實驗에 依하면 注射後 처음 24時間동안 血漿에서 放射性 沃化物이 甲狀腺과 腎臟으로 깨끗이 消滅되는 率은 다음 식과 같았다.

$$\text{Total Plasma-}I^{131}, \% \text{dose}/l. = V_1 e^{-(K_1+K_2)t}$$

다시 放射性 沃化物은 비슷한 時間關係를 가지고 腎臟에서 排泄되었다.

$$\text{Urinary-}I^{131}, \% \text{dose}/l. = V_2 e^{-(K_1+K_2)t}$$

結局(K_1+K_2)는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 放射性 沃素가 甲狀腺에 모이는 曲線의 slope로 計算할 수 있었다.

$$\text{Thyroid-}I^{131}, \% \text{dose} = U(1 - e^{-(K_1+K_2)t}) \dots \dots (1)$$

沃化物은 甲狀腺에 모이는 것과 排泄되는 것 외에 아무런 過程도 밟지 않지 때문에 最大蓄積量 U 가 처음에 計算되면 K_1 과 K_2 의 두 常數도 分離 計算할 수 있었다.

$$U = \frac{K_1}{K_1 + K_2} \dots \dots \dots (2)$$

放射性 沃素가 最大로 甲狀腺에 蓄積된 後에는 다음과 같은 時間에 對한 指數函數式에 따라 減少되었다.

$$\text{Thyroid-}I^{131}, \% \text{dose} = Ue^{-K_4 t} \dots \dots \dots (3)$$

그러나 여기서 K_4 '는 hormone 分泌常數의 眞正한 값이 못되었다. 왜냐 하면 K_4 는 分泌된 hormone의 肝臟에서 分解되어 유리된 沃素가 다시 甲狀腺에 速度常

數 K_1 으로 들어가기 때문이다. 그러므로 甲狀腺의 放射性 沃素의 量은 hormone이 速度常數 K_4 로 分泌되는 것과 沃素가 速度常數 K_1 으로 甲狀腺에 蓄積되는 것과의 平衡值가 되었다.

만일 甲狀腺 hormone에서 iodine이 全部 遊離되었다면 다음과 같은 式에 依해서 減退率 K_4 '의 값을 수정할 수 있었다.

Table 1 Parameters on iodine metabolism.

Symbol	Indicator of	Definition
K_1	Rate constant for thyroid uptake	fraction of plasma iodine, cleared per hour by the thyroid gland.
K_2	Rate constant for excretion	fraction of plasma iodine, cleared per hour by the kidney.
K_4	Rate constant for hormone secretion	fraction of thyroidal iodine, released as hormone per hour.
U	Maximum Thyroidal uptake	fraction of plasma iodine, accumulated by the thyroid gland, % dose.
PBI	Concentration of thyroid hormone	concentration of serum protein-bound iodine, γ /ml. ($\gamma\%$).
PBI ¹³¹	Concentration of hormone- ¹³¹ I	concentration of serum protein-bound ¹³¹ I, % dose/ml.
U-PBI ¹³¹	Maximum PBI ¹³¹	concentration of serum PBI ¹³¹ , calculated.

$$K_4 = \frac{K_4'}{1-U} \dots \dots \dots (4)$$

(II) 甲狀腺分泌率 決定法

Hormone의 分泌에 對한 速度常數 K_4 가 決定된 後에 이것을 토끼의 甲狀腺 分泌率 決定에 어떻게 利用할 수 있을 가를 檢討하였다.

分泌한 hormone의 比放射能과 순환 하고 있는 hormone의 比放射能이 같다면 다음과 같은 關係式이 成立되며 이에 依하여 甲狀腺 分泌率이 計算되었다.

$$\frac{\text{Secreted hormone-iodine } \gamma/\text{hr.}}{\text{Secreted hormone-}I^{131}, \% \text{dose/hr.}} = \frac{\text{PBI } \gamma/\text{ml. serum}}{\text{PBI}^{131}, \% \text{dose/ml. serum}}$$

Hormone-¹³¹I의 分泌率은 放射性 沃素가 甲狀腺에 最高로 蓄積된 以後 任意의 여러 時間에서의 ¹³¹I의 量에 速度常數 K_4 를 곱해서 算出 할 수 있었다. 따라서 甲狀腺 分泌率은 血清 PBI와 血清 PBI¹³¹의 濃도가 알려지면 算出할 수 있었다. 여기서 순환 하고 있는 hormone의 比放射能은 PBI와 PBI¹³¹의 比로써 決定 되었다.

(III) 動物實驗

a) 甲狀腺 分泌率을 測定하기 爲해서 carrier-free NaI¹³¹ 7 μ c를 토끼의 靜脈에 注射해서 性能이 좋은 scintillation γ -ray detector와 ra er lab. Model SC-

18B superscaler를 使用하여 10日間 甲狀腺-¹³¹I를 外部測定 하였다. 이때 檢出器의 窓에 甲狀腺 以外の 部分에서 들어오는 放射能을 막기 爲하여 그리고 shielded manual sample changer 속에서의 standard sample과 窓의 거리를 考慮하여 1.6 cm 두께의 鉛을 썼다.

b) 이 期間 동안에 피를 뽑아 2,700r.p.m. 遠心分離器로 約 20分間 分離 시켜서 얻은 血清 0.5ml로 부터 5% 黃酸亞鉛 溶液과 5%의 水酸化 나트륨 溶液으로 蛋白質을 沈澱 시켰다. 이것을 물로 3回 씻어 이때 마다 2,700r.p.m. 遠心分離器로 約 10分間 돌려 完全히 分離 沈澱 시키고 PBI¹³¹의 濃度を 測定 하였다.

任意時間에 있어서의 血清 PBI¹³¹, % dose는 PBI¹³¹에 對한 任意時間에서의 count數와 注射한 것과 같은 量의 放射性 沃素에 對한 生體 밖에서의 같은 時間에서의 count數의 百分比를 意味한다. Thyroid I¹³¹, % dose도 같은 方法으로 計算하였다. 이것을 式으로 表示하면 다음과 같았다.

$$\begin{aligned} \text{Serum PBI}^{131}, \% \text{ dose/ml.} &= \frac{\text{Count rate of PBI}^{131}/\text{ml. serum}}{\text{Count rate of standard NaI}^{131} \text{ soln.}} \times 100 \\ \text{Thyroid-}I^{131}, \% \text{ dose} &= \frac{\text{Count rate of thyroid-}I^{131}}{\text{Count rate of standard NaI}^{131} \text{ soln.}} \times 100 \end{aligned}$$

(IV) 實驗材料

a) 放射性 沃素

Radioisotope: Iodine-¹³¹I

Preparation : Sodium iodine in 0.01N sodium thiosulphate

Concentration of total element: No carrier added during extraction

Radiochemical purity: 99%

Acidity, Alkalinity or pH: pH, 8-10

Metallic impurities: As and Pb less than 5p.p.m., Te less than 10p.p.m.

b) 實驗動物

White rabbit (home product)

實驗結果

(I) 速度常數

速度常數를 K_1, K_2, K_4 와 甲狀腺 最高蓄積率 U 및 U PBI¹³¹의 값은 甲狀腺-I¹³¹와 PBI¹³¹의 dose 百分率 이 時間에 따라 變換 값을 對數值로 換算하여 定하였다.

a) 甲狀腺 外部測定에 依한 K_4 의 값.

式(1)과 (2)에서 (K_1+K_2)를 分離하면

$$K_1 = U(K_1 + K_2) = 0.255 \times 0.11 = 0.028t^{-1}$$

$$K_2 = (K_1 + K_2) - K_1 = 0.11 - 0.028 = 0.082t^{-1}$$

式(3)과 (4)에서 K_4 를 計算하면

$$K_4 = \frac{K_4'}{1-U} = \frac{0.0039}{1-0.255} = 0.0052t^{-1}$$

이 速度常數 K_4 가 甲狀腺 機能에서 第一 重要한 變數이다. 여기서 이 값은 時間마다 hormone으로써 分

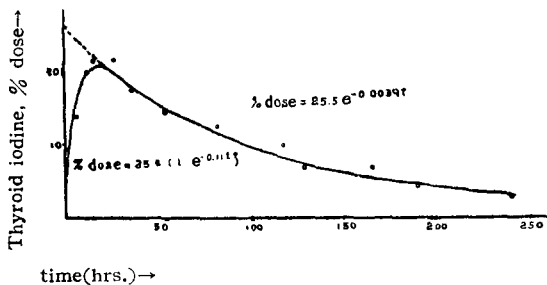


Fig. 2. Time relations of thyroïdal radioactive iodine in rabbit.

泌된 放射性 沃素의 部分을 意味했다. 그러나 放射性 沃素는 普通(放射性이 아닌) 沃素가 나타내는 모든 化學的, 生理學的 性質을 나타내므로 이 값은 結局 時間마다 hormone으로써 分泌된 全沃素를 意味한다.

b) PBI¹³¹測定에 依한 K_4 의 값

Serum PBI¹³¹의 濃度는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 注射한 後 80-100 時間까지는 增加해서 最高點에 達했다가 다음과 같은 時間의 指數函數로써 Serum PBI¹³¹의 濃度는 減少했다.

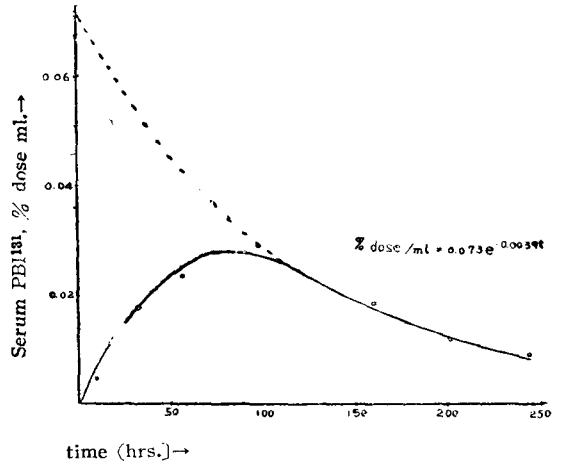


Fig. 3. Serum PBI¹³¹ as related to time after injection of radioactive iodine in rabbit.

$$\text{Serum PBI}^{131}, \% \text{dose/ml.} = 0.073e^{-0.0039t}$$

이 函數에서 減速率 K_4 는 thyroïdal radioactive iodine을 測定해서 얻은 減速率과 같은 order이었다.

Fig.2와 Fig.3에서 보는 바와 같이 甲狀腺-I¹³¹와 血清 PBI¹³¹에서 計算된 減速率 K_4 는 同一 했기 때문에 甲狀腺-I¹³¹과 血清 PBI¹³¹가 最大濃度를 나타낸 後라면 어느 時間을 擇하여도 K_4 를 토대로 計算한 甲狀腺 分泌率은 같은 結果가 되었다. 이 實驗式으로부터 얻어진 曲線은 그대로 一定한 時間에서 分泌率 計算에 適用시키면 實驗期間의 長短에는 無關하여 같은 結果가 얻어 졌다.

(II) Secretion Rate

지금 注射했을 때의 時間을 基本時間으로 잡는다면 끝으로 다음과 같은 式이 나온다.

$$\begin{aligned} &\text{Secreted thyroxine, mg/day} \\ &= \frac{K_4 t^{-1} U \% \text{ dose. PBI } \gamma \%}{U \text{ PBI}^{131}, \% \text{ dose/ml.}} \cdot 0.03673 \dots \dots (6) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\text{Secreted thyroxine mg/day} \\ &= \frac{0.0052 + 25.5 + \text{PBI } \gamma \%}{0.073} \times 0.03673 \end{aligned}$$

以上の 모든 因子들이 妥當하다면 이 方法은 틀림 없을 것이다.

考 察

甲狀腺 分泌率을 測定하기 爲해서 使用한 토끼는 元來 小動物이어서 血液 絕對量이 적다. 그러므로 採取한 血液의 減少때문에 생기는 生理作用의 影響과 I^{131} 量의 減少를 無視할 수 없기 때문에 같은 量의 NaI^{131} 를 12마리의 토끼에 同時에 注射하여 번갈아 1마리當 1회씩 血液을 뽑았다. 이때 토끼 個個의 基礎代謝率은 꼭 같다는 假定下에 이런 方法을 擇한 것이 었다. 本實驗 方法에 依하면 實驗動物을 죽이지 않고 또 “Thyroxine”과 “goitrogens”를 注射하지 않고서도 分泌率을 測 수 있는 것이 特徵이다. 토끼의 음식물에 沃素含量이 큰 것을 먹이면 血漿內 沃素의 比放射能이 減少하기 때 문에 甲狀腺의 I^{131} 蓄積量이 減少할 것이다.

그러나 分泌된 hormone沃素의 比放射能도 따라서 減少 하기 때문에 甲狀腺 分泌率 計算에는 誤差가 없 음을 알 수 있었다.

(6)式에서 一定量의 血清에 存在하는 PBI γ 量만 알 면 分泌된 hormone의 mg量이 計算된다. (6)式에서 0.03673의 값은 γ 量을 mg/day로 換算하는 데 쓰이 었다. 이 값은 分泌된 hormone이 모두 “Thyroxine”이 란假定下에 計算한 값이다. 그러나 分泌된 hormone의 10-20%는 58.5%沃素를 包含한 “Triiodothyronine” 이다. “Thyroxine”은 65.4%의 沃素를 包含하고 있 기 때문에 甲狀腺 分泌率은 理論值보다 1-2% 큰 값을 나타냈다.

마지막 式이 가지는 正確度는 모든 因子들의 比較의 인 誤差로 推測 할 수 있는데 여기에 따른 이 方法의 正確度는 대략 10-20%로 推算할 수 있었다. 이 程度의 正確度라면 같은 結果가 再現할것이라 생각된다.

本 實驗은 原子力院 研究補助金으로 이루어진 것이며 同院과 이 實驗에 協助한 大學院 學生들에게 感謝하는 바이다.

摘 要

이 實驗에서는 放射性 同位元素를 써서 토끼의 甲狀腺 分泌率을 測다. 放射性 沃素를 토끼에 注射해서 甲狀腺에 모인 放射能을 10日동안 測定하고 이 期間동안

에 피를 뽑아서 蛋白質과 結合한 沃素(PBI)와 蛋白質과 結合한 放射性 沃素(PBI^{131})의 濃度를 定한다.

Thyroid hormone의 分泌速度常數는 甲狀腺에서 放射 性 沃素의 減退率로부터 計算되고 放射性 hormone沃素의 分泌率은 이 速度常數를 甲狀腺에 存在하는 I^{131} 의 量에 곱해서 計算 되어진다. 순환하고 있는 甲狀腺 hormone의 比放射能과 該 分泌된 hormone의 比放射能이 같다면 甲狀腺 分泌率은 다음 式에 依해서 計算 된다.

$$\frac{\text{Secreted hormone-iodine, } \gamma/\text{hr.}}{\text{Secreted hormone-}I^{131}, \% \text{dose/hr.}} = \frac{\text{PBI, } \gamma/\text{ml. serum}}{\text{PBI}^{131}, \% \text{dose/ml. serum}}$$

本 實驗의 方法은 各各 基準를 달리하는 甲狀腺 機能을 測定해서 이들을 結付시킨 것이다.

文 獻

1. Dempsey, N.E. and Astwood, E. B., 1943, Determination of the Rate of Thyroid Hormone Secretion at Various Environmental Temperature, *Endocrinol.* **32**, 509-518
2. Hertz, S., Roberts, A. and Evans, R. D., 1938, Radioactive Iodine as an Indicator in the Study of Thyroid Physiology. *Proc. Soc.exp. Biol. Med.* **38**, 510-513
3. Oddie, T. H., 1949, Analysis of Radio-Iodine Uptake and Excretion Curve. *Brit. J. Radiol.* **22**, 261-267
4. Brownell, G. L., 1951, Analysis of Techniques for the Determination of Thyroid Function with Radio-Iodine, *Z. Clin. Endocrinol.* **11**, 1095-1105
5. Blincoe, C. and Brody, S., 1955, The Influence of Ambient Temperature, Air Velocity, Radiation Intensity and Starvation on Thyroid Activity and Iodine Metabolism in Cattle, *Univ. Mc. Agr. Exper. Sta. Res. Bull.* 576
6. Taurog, A., Wheat, J. D. and Chaikoff, L. L., 1956, Nature of I^{131} Compounds Appearing in the Thyroid Vein After Injections of Iodine- I^{131} , *Endocrinol.* **58**, 121-131